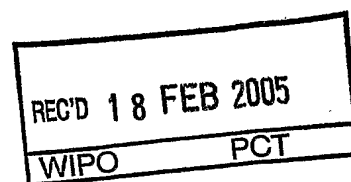




Europäisches
Patentamt

European
Patent Office

Office européen
des brevets



Bescheinigung

Certificate

Attestation

Die angehefteten Unterlagen stimmen mit der ursprünglich eingereichten Fassung der auf dem nächsten Blatt bezeichneten europäischen Patentanmeldung überein.

The attached documents are exact copies of the European patent application described on the following page, as originally filed.

Les documents fixés à cette attestation sont conformes à la version initialement déposée de la demande de brevet européen spécifiée à la page suivante.

Patentanmeldung Nr. Patent application No. Demande de brevet n°

04005103.9

**PRIORITY
DOCUMENT**
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

Der Präsident des Europäischen Patentamts;
Im Auftrag

For the President of the European Patent Office

Le Président de l'Office européen des brevets
p.o.

R C van Dijk



Anmeldung Nr:
Application no.: 04005103.9
Demande no:

Anmeldetag:
Date of filing: 04.03.04
Date de dépôt:

Anmelder/Applicant(s)/Demandeur(s):

Merck Patent GmbH
Frankfurter Strasse 250
64293 Darmstadt
ALLEMAGNE

Bezeichnung der Erfindung/Title of the invention/Titre de l'invention:
(Falls die Bezeichnung der Erfindung nicht angegeben ist, siehe Beschreibung.
If no title is shown please refer to the description.
Si aucun titre n'est indiqué se référer à la description.)

Mittel zum Eindecken von mikroskopischen Präparaten

In Anspruch genommene Priorität(en) / Priority(ies) claimed /Priorité(s)
revendiquée(s)
Staat/Tag/Aktenzeichen/State/Date/File no./Pays/Date/Numéro de dépôt:

Internationale Patentklassifikation/International Patent Classification/
Classification internationale des brevets:

G01N33/00

Am Anmeldetag benannte Vertragstaaten/Contracting states designated at date of
filing/Etats contractants désignées lors du dépôt:

AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HU IE IT LU MC NL
PL PT RO SE SI SK TR LI

4. MÄR. 2004 14:41

0049 6151 727191

NR. 559 S. 7

2004 103148 RM.doc1/19

**Merck Patent Gesellschaft
mit beschränkter Haftung
64271 Darmstadt**

**Mittel zum Eindecken von
mikroskopischen Präparaten**

Druckdatum: 04.03.2004
Speicherdatum: 04.03.2004

Empf.zeit:04/03/2004 14:38

Empf.nr.:545 P.007

- 1 -

Mittel zum Eindecken von mikroskopischen Präparaten

Die Erfindung betrifft mit Eindeckmedium beschichtete Deckgläser, Verfahren zu deren Herstellung sowie deren Verwendung bei der
5 manuellen und automatischen Eindeckung von mikroskopischen Präparaten.

Die mikroskopische Untersuchung von Präparaten in der Durchlichttechnik beruht auf der Lichtbrechung an sehr dünnen Objekten. Dazu werden die
10 Präparate zunächst auf einen Objektträger aufgezogen, mit Reagenzien, wie Färbereagenzien oder Entwässerungsmitteln, behandelt und anschließend mit einem glasähnlichen Harz fest umgeben. Dies geschieht durch Einbettung oder Infiltration von Harzen in die Proben. Diese Harze,
15 auch Eindeckmedien genannt, durchdringen den dünnen Schnitt des Untersuchungsmaterials und verbinden sich idealerweise ohne Phasenbrechung mit dem Objektträger unter dem Material und dem Deckglas über dem Material. Man erhält so ein in eine Glasphase eingebettetes Präparat, das sich gut für die Untersuchung im Durchlicht-
20 mikroskop eignet und zugleich konserviert ist.

Als bevorzugtes Material für Objektträger und Deckgläser wird im allgemeinen Glas verwendet. Es ist jedoch beispielsweise auch möglich, statt eines Deckglases zum Abdecken der Präparate eine Kunststoffolie oder Deckgläser aus Kunststoff zu verwenden. Diese Materialien haben
25 jedoch im Gegensatz zu Glas den Nachteil, daß sie nicht vollständig undurchlässig für Lösungsmittel sind. Die eingedeckten Präparate altern schneller und die Deckfolie kann sich ablösen.

Die Eindeckung von Präparaten kann in hydrophobe oder hydrophile
30 Eindeckmedien erfolgen.

- 2 -

Zur Eindeckung in hydrophobe Medien muß das Präparat, nachdem es auf den Objektträger aufgezogen und gefärbt wurde, zunächst entwässert werden. Dazu wird es über eine aufsteigende Alkoholreihe schließlich in Xylol oder einen Xylolersatzstoff eingebracht. Anschließend wird der
5 Objektträger mit dem hydrophoben Eindeckmedium versehen und das Deckglas so aufgelegt, daß keine Luftblasen im Präparat entstehen. Nach Aushärtung des Eindeckmediums ist das Präparat in einer glasähnlichen Umgebung luftdicht eingeschlossen und kann im Durchlichtmikroskop untersucht werden.

10 Zur Eindeckung in hydrophile Eindeckmedien muß die Probe nicht entwässert werden, sondern kann sofort mit dem Eindeckmedium versehen werden. Nach Abdeckung mit dem Deckglas und Aushärtung des Eindeckmediums ist das Präparat wie bei Verwendung eines hydrophoben
15 Eindeckmediums in einer glasähnlichen Umgebung luftdicht eingeschlossen und kann im Durchlichtmikroskop untersucht werden.

Das Eindecken der Präparate ist ein sehr aufwendiger und zeitintensiver Schritt. Wird das Eindeckmedium manuell auf den Objektträger aufgebracht,
20 muß darauf geachtet werden, daß stets eine gleichbleibende Menge aufgegeben wird, da sonst das Medium seitlich austritt und verklebt, oder aber die Eindeckung nicht vollständig ist. Auch bei der Verwendung von Eindeckautomaten treten häufig Störungen auf, da austretendes Eindeckmedium den Automaten verklebt. Werden die eingedeckten
25 Präparate zu schnell nach dem Eindecken gestapelt oder eng gelagert, können sie auch untereinander oder mit ihrer Umgebung verkleben.

Weiterhin benötigt das Eindeckmedium bis zur Aushärtung Trocknungszeiten von mindestens 30 Minuten, bei hydrophilen Medien sogar mehr als
30 45 Minuten. Auf diese Weise müssen lange Wartezeiten in Kauf genommen werden, bevor das eingebettete Präparat unter dem Mikroskop untersucht werden kann. Dies gilt insbesondere für Untersuchungen mit Immersions-

- 3 -

objektiven. Der große Zeitbedarf ist zudem besonders bei Schnellschnitten, die beispielsweise während einer Operation entnommen werden und sofort untersucht werden müssen, ein großer Nachteil.

5 US 3,498,860 offenbart den Einsatz von Deckgläsern, die bereits vorher mit Eindeckmedium beschichtet wurden. Vorteil dieses Verfahrens ist, dass das Deckglas vorher mit dem Eindeckmedium beschichtet, getrocknet und bis zum Einsatz gelagert werden kann. Die Arbeit mit flüssigen Eindeckmedien während des Eindeckens entfällt. Auch die Trockenzeiten
10 werden stark verkürzt.

Trotzdem fand das in US 3,498,860 offenbarte Verfahren keine Anwendung in der Praxis, da die beschichteten Deckgläser nur mässige Hafteigenschaften zeigten und sich häufig nach kurzer Zeit wieder ablösten.

15

Aufgabe der vorliegenden Erfindung war es daher, mit Eindeckmedium beschichtete Deckgläser bereitzustellen, die die Nachteile des Standes der Technik nicht aufweisen.

20

Es wurde gefunden, dass mit Eindeckmedium beschichtete Deckgläser mit sehr guten Hafteigenschaften und langer Lebensdauer hergestellt werden können, wenn die Schicht des Eindeckmediums zwischen 0,05 und 0,8 mm beträgt und die Schichtdickentoleranz nicht mehr als $\pm 0,1$ mm, bevorzugt nicht mehr als $\pm 0,05$ mm beträgt. Beschichtungen mit diesen

25

Eigenschaften können manuell nicht zuverlässig erzeugt werden. Es wurde jedoch gefunden, dass maschinelle Verfahren die Herstellung der Deckgläser mit der gewünschten Beschichtung ermöglichen.

30

Gegenstand der Erfindung ist deshalb ein Mittel zum Eindecken von Präparaten, das im wesentlichen aus einem Deckglas und einer darauf aufgetragenen Schicht eines Eindeckmediums besteht, dadurch

- 4 -

- gekennzeichnet, dass die Schichtdicke des Eindeckmediums zwischen 0,05 und 0,8 mm und die Schichtdickentoleranz nicht mehr als $\pm 0,1$ mm beträgt.
- 5 In einer bevorzugten Ausführungsform beträgt die Schichtdickentoleranz nicht mehr als $\pm 0,05$ mm.
- In einer bevorzugten Ausführungsform beträgt die Schichtdicke des Eindeckmediums ca. 0,2 mm.
- 10 In einer bevorzugten Ausführungsform ist das Deckglas aus Glas.
- In einer bevorzugten Ausführungsform beträgt der Feststoffanteil des Eindeckmediums in getrocknetem Zustand auf einer Fläche von 24 x 50 mm 150 – 300 mg.
- 15
- Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist zudem ein Verfahren zur Herstellung von mit Eindeckmedium beschichteten Deckgläsern, dadurch gekennzeichnet, dass das Eindeckmedium maschinell mittels einer oder
- 20 mehrerer Dosiernadeln, mittels Druckverfahren, Beschichtung durch einen Flüssigkeitsvorhang, Auftrag durch eine Schlitzdüse, Verteilen mit einem Rakel oder mittels Spin Coating mit einer Schichtdicke zwischen 0,05 und 0,8 mm und einer Schichtdickentoleranz von nicht mehr als $\pm 0,1$ mm auf das Deckglas aufgetragen wird.
- 25 In einer bevorzugten Ausführungsform erfolgt der Auftrag des Eindeckmediums mittels einer oder mehrerer Dosiernadeln.
- In einer anderen bevorzugten Ausführungsform erfolgt der Auftrag des Eindeckmediums mittels Siebdruck.
- 30

- 5 -

Gegenstand der Erfindung ist auch die Verwendung eines erfindungsgemäßen mit Eindeckmedium beschichteten Deckglases zur manuellen oder automatischen Eindeckung von Präparaten.

5 Erfindungsgemäß bedeutet Eindecken von Präparaten das Bereitstellen eines Objektträgers, auf dem sich ein aufgezo-
genes, optional gefärbtes, mit Intermedium benetztes Präparat befindet sowie eines erfindungsgemäß beschichteten Deckglases und das anschließende Abdecken des Objektträgers mit dem Deckglas. Als Intermedium wird bei Eindeckung mit
10 hydrophoben Eindeckmedien das letzte Lösungsmittel der Entwässerungsreihe bzw. der Färbung, d.h. typischerweise Xylol oder Xylolersatzstoffe, bei Eindeckung mit hydrophilen Eindeckmedien typischerweise Wasser bezeichnet. In diesen Lösungsmitteln können die Präparate über einen längeren Zeitraum bis zur Eindeckung gelagert werden.

15 Durch das erfindungsgemäße Deckglas wird das Eindecken von Präparaten stark vereinfacht. Während zum Eindecken nach dem Stand der Technik drei Komponenten, d.h. der Objektträger mit dem aufgezo-
genen Präparat, das flüssige Eindeckmedium und das Deckglas,
20 zusammengeführt werden müssen, wird das Verfahren erfindungsgemäß auf zwei leicht handhabbare Komponenten, d.h. den Objektträger mit dem aufgezo-
genen, mit Intermedium befeuchteten Präparat und das beschichtete Deckglas, reduziert.

25 Unter den Begriff Deckglas fallen erfindungsgemäß alle für den Zweck bekannten und geeigneten Deckgläser, wie z.B. Deckgläser aus Glas oder Kunststoff oder auch Folien. Bevorzugt werden erfindungsgemäß Deckgläser aus Glas. Diese werden in Abhängigkeit ihrer Größe bevorzugt auf einer Seite mit einer definierten Menge des flüssigen Eindeckmediums
30 versehen.

- 6 -

- Als Eindeckmedium zur Beschichtung der Deckgläser können alle typischerweise zum Eindecken nach dem Stand der Technik verwendeten Eindeckmedien eingesetzt werden. Die Beschichtung kann sowohl mit hydrophoben als auch mit hydrophilen Eindeckmedien erfolgen. Dies sind beispielsweise Eindeckmedien auf Basis von organischen Polymeren, wie Kanadabalsam, Acrylatharzen, z.B. Polymethacrylat, Polystyrol, Polyvinylpyrrolidon, Polyvinylalkohol oder Glyceringelatine. Typischerweise enthalten derartige Eindeckmedien Lösungsmittel, wie Wasser, Xylol oder Xylolersatzstoffe, wie Toluol, oder andere aromatische oder aliphatische Kohlenwasserstoffe, sowie weitere Zusatzstoffe, die dem Fachmann bekannt sind. Weitere Beispiele für Eindeckmedien finden sich in „Romeis - Mikroskopische Technik“, Urban & Schwarzenberg, 17. Auflage, 1989, Seite 296-297.
- Es wurde gefunden, dass der Feststoffanteil der Eindeckmedien zur Beschichtung der Deckgläser ca. 40 % oder mehr betragen sollte. Dieser Wert ist jedoch nur als Richtwert, nicht aber als Absolutwert aufzufassen. In Abhängigkeit der jeweiligen Feststoffkomponente, der Oberflächenspannung und der Viskosität des Eindeckmediums kann sich dieser Wert ändern. Der Fachmann auf dem Gebiet des Eindeckens ist mit diesem Richtwert nach wenigen Beschichtungs- und Eindecktests in der Lage zu beurteilen, welcher Feststoffanteil bzw. welches Volumen Eindeckmedium pro mm² Deckglas für das jeweilige Eindeckmedium sinnvoll ist.
- Die Viskosität der handelsüblichen Eindeckmedien kann vor deren Verwendung durch Abdampfen eines Teils des Lösungsmittels erhöht werden, so daß der Feststoffanteil steigt. Als besonders geeignet haben sich Eindeckmedien mit einer Viskosität zwischen 2000 und 4000 mPas erwiesen. Besonders vorteilhaft ist der Einsatz von Eindeckmedien mit einer Viskosität um 3000 mPas. Eine Verarbeitung höherviskoser Medien ist bei der zu erzielenden Schichtdicke und Schichtdickentoleranz schlecht möglich.

- 7 -

Der Feststoffanteil des Eindeckmediums sollte in getrocknetem Zustand zwischen 150 und 300 mg auf einer Fläche von 24 x 50 mm betragen. Bevorzugt werden ca. 200 mg auf eine Fläche von 24 x 50 mm aufgetragen. Ist der Feststoffanteil höher, besteht die Gefahr, dass die Schichtdicke so groß ist, dass das Lösungsmittel beim Eindecken nicht bzw. nicht schnell genug die Schicht durchdringt und es dann zu keiner Verklebung von Objektträger und Deckglas kommt. Wenn zu wenig aufgebracht wird, ist die Polymeremasse nicht ausreichend, und die Funktionalität ist nicht gewährleistet.

Es wurde gefunden, dass eine für eine stabile und dauerhafte Eindeckung kritische Größe der beschichteten Deckgläser insbesondere die Schichtdicke des Eindeckmediums und die Schichtdickentoleranz ist. Schwankt die Schichtdicke über eine Toleranz von $\pm 0,1$ mm so löst sich häufig schon nach kurzer Zeit das Deckglas an einigen Stellen vom Präparat ab. Dadurch altert das Präparat vorzeitig und kann nicht mehr mikroskopisch untersucht werden. Eine optimale Lagerstabilität und Haltbarkeit zeigte sich bei Beschichtungen mit einer Dicke zwischen 0,05 und 0,8 mm, bevorzugt zwischen 0,1 und 0,4 mm, und einer Schichtdickentoleranz von nicht mehr als $\pm 0,1$ mm, bevorzugt nicht mehr als $\pm 0,05$ mm, besonders bevorzugt nicht mehr als $\pm 0,02$ mm. Eine derartige Beschichtung kann nur schwer und nicht zuverlässig von Hand aufgetragen werden. Es wurde jedoch gefunden, dass sich verschiedene maschinelle Verfahren gut für den gleichmäßigen Auftrag des Eindeckmediums auf die Deckgläser eignen:

Auftrag mittels Dosiernadel(n)

Besonders bevorzugt ist der Auftrag mittels einer oder mehrerer Dosiernadeln. Mit diesem Verfahren ist eine vollflächige wie auch teilflächige Beschichtung der zu beschichtenden Werkstoffe möglich.

- 8 -

- Das Eindeckmedium wird in einem Behältnis vorgelegt und z.B. mit Hilfe einer Dosierpumpe, Druckluft, Flüssigkeitsdruck oder durch einen Kolben über eine oder mehrere Dosiernadeln auf das Deckglas aufgebracht. Die Beschichtung erfolgt, indem sich die Dosiernadel und/oder das Deckglas
- 5 bzw. die Vorlage mit dem Deckglas in x und y Richtung bewegt. Die entsprechende homogene Oberfläche und Schichtdicke kann über die Geschwindigkeit der Bewegung der Nadel bzw. des Deckglases in x/y-Richtung und/oder über den Mengendurchsatz aus der Nadel gesteuert werden.
- 10 Vorteil dieses Verfahrens ist, dass das Eindeckmedium vorher in bezug auf die Viskosität genau eingestellt werden kann und bis zum Austrag in einem geschlossenem System verbleibt (keine Viskositätsänderung während des Beschichtungsprozesses).
- Der Durchmesser der Dosiernadel beträgt typischerweise zwischen 0,25
- 15 und 7,5 mm, bevorzugt ca. 0,8 mm. Zu beachten ist, dass der Abstand zwischen Nadel und Deckglas unter sehr engen Toleranzen erfolgen muss – entsprechend den Toleranzen der Schichtdicke. Der Abstand der Dosiernadel zum Deckglas sollte der gewünschten Schichtdicke des Eindeckmediums entsprechen. Durch die Geschwindigkeit der Dosiernadel,
- 20 die Abstände der einzelnen Beschichtungslinien, den Volumenstrom des Eindeckmediums und die Viskosität des Eindeckmediums läßt sich für jedes Eindeckmedium die Beschichtung optimieren.
- Bei Bedarf können die Nadel und/oder das Eindeckmedium temperiert werden.

25

Druckverfahren

Zum Beschichten der Deckgläser, Folien und Platten eignen sich auch drucktechnische Verfahren. Die wichtigsten hierfür sind:

30

Tampondruck
Offsetdruck
Tiefdruck

- 9 -

Siebdruck

Inkjet

5 Als davon besonders geeignetes Verfahren hat sich das Siebdruckverfahren herausgestellt.

Hier ist es möglich mit hochviskosen Eindeckmedien zu arbeiten und damit definierte Schichtdicken aufzutragen. Außerdem kann man das Sieb so gestalten, dass nur die gewünschten Flächen beschichtet werden. Um eine große Stückzahl und eine gute Auslastung der großformatigen Maschinen zu gewährleisten, müssen die Deckgläser in einen Carrier eingelegt werden. Dieser kann viele Plättchen aufnehmen. Er muss so gestaltet werden, dass Kavitäten vorgesehen sind, in welche die Deckgläser genau hineinpassen, so dass eine ebene Fläche für den Druck gegeben ist. Da beim Drucken hohe Kräfte auftreten, werden die Deckgläser bevorzugt mit

10

15 Vakuum - Unterstützung fixiert.

Das Eindeckmittel wird dann auf das Sieb gegeben und anschließend der Druckvorgang gestartet.

Typischerweise verteilt ein Füllrakel das Medium auf dem ganzen Sieb. Anschließend fährt das Druckrakel darüber. Dieses drückt das gefüllte Sieb, welches einen Abstand von einigen Millimetern zu den Deckgläsern hat, auf diese. Hierdurch wird das Eindeckmittel auf die Deckgläser gedruckt.

20

Die Schichtdicke hängt ausschließlich vom verwendeten Sieb ab. Dabei müssen die offene Maschenweite und der Fadendurchmesser des Siebs an das jeweilige Eindeckmedium, insbesondere an dessen Viskosität, angepasst werden. In der Regel eignen sich Siebe mit Maschenweiten zwischen 300 und 1500 µm, bevorzugt zwischen 500 und 1000 µm, und Fadendurchmesser zwischen 100 und 500 µm. Beispielsweise wurde bei

25

30 einem Eindeckmedium mit einer Viskosität von 2900 mPa·s mit einem Sieb mit einer Maschenweite von 938 µm und einem Fadendurchmesser von 140

- 10 -

µm eine feuchte Schichtdicke von 200 µm erreicht. Durch das Trocknen wird die Schichtdicke dann noch etwas kleiner. Häufig ist es, insbesondere bei Eindeckmedien mit relativ niedriger Viskosität, vorteilhaft, nicht nur eine Siebdruckbeschichtung vorzunehmen, sondern zwei oder mehrere, z.B. mit einem Karussellsiebdruckverfahren.

Nach dem Drucken wird der Carrier mit den Deckgläsern entnommen und ein neuer Vorgang kann vorbereitet werden.

Beschichtung durch einen Flüssigkeitsvorhang

Die Deckgläser werden unter einem Flüssigkeitsvorhang hindurchgeschoben.

Durch die Geschwindigkeit der Gläser und den Volumenstrom des Eindeckmediums wird die Schichtdicke festgelegt.

Für dieses Verfahren muss das Eindeckmedium sehr stark verdünnt werden, um ein gleichmäßiges Fließen zu gewährleisten. Dadurch kann es vorteilhaft sein, mehrere Beschichtungsdurchgänge durchzuführen.

Die Vorteile dieses Verfahrens bestehen in der auf diese Weise erzielbare besonders gleichmäßige Oberfläche.

Auftragen durch eine Schlitzdüse

Bei diesem Verfahren wird das Eindeckmedium mit Druck durch eine Schlitzdüse gepresst, die genau die Breite der Deckgläser hat. Durch bewegen der Düse wird die gesamte Fläche abgefahren und somit das Medium auf das Glas gebracht.

Die Düse kann sowohl so ausgeführt sein, dass das Medium aus der Düse direkt auf das Glas gebracht wird, als auch so, dass das Medium durch eine Vorrichtung nach dem Auftreffen auf der Glasoberfläche verstrichen wird.

- 11 -

Punktuelles Auftragen des Eindeckmediums und Verteilen mit einem Schieber (Rakeln)

- 5 Das Eindeckmedium wird, analog zum manuellen Verfahren, an einem Punkt auf das Deckglas gegeben. Anschließend wird es mit einem Schieber, einem sogenannten Rakel, verteilt. Hierbei kann es sich um einen Spiralrakel handeln, der direkt auf der Glasoberfläche geführt wird, oder eine Platte, welche in dem Abstand geführt wird, dem die gewünschte
- 10 Schichtdicke entspricht.
- Bei diesem Verfahren ist eine genaue Schichtdicke gut zu erreichen. Jedoch wird etwas Eindeckmedium immer seitlich weggedrückt. Daher ist zum Beschichten ein Carrier nötig, in den die Deckgläser eingelegt werden. Auch dieser muss nach jedem Beschichtungsdurchgang gereinigt werden.
- 15 Außerdem müssen die Plättchen immer zum Trocknen vom Carrier getrennt werden, da sie nach Aushärtung des Mediums nicht mehr zu lösen sind.

Spin Coating

- 20 Bei diesem Verfahren rotiert das zu beschichtende Deckglas. Das Eindeckmedium wird tropfenförmig aufgegeben und verteilt sich durch die Fliehkraft.
- Da immer etwas Medium die Oberfläche des Glases verlässt, ist hier eine
- 25 ständige Reinigung der Spin Coating Maschine nötig, da sonst ein Verschmutzen und Festkleben der Gläser nicht ausgeschlossen werden kann.
- In der Regel schließt sich bei jedem der genannten Verfahren nach dem
- 30 Auftrag des Eindeckmediums ein Trocknungsschritt an. Sollen die beschichteten Deckgläser sofort eingesetzt werden, reicht eine Trockenzeit von 1 bis 5 Minuten bei entsprechend erhöhter Temperatur aus.

- 12 -

Trockenschrank. Zu hohe Temperaturen, d.h. Temperaturen über 60-80°C, sind für viele Eindeckmedien nicht geeignet, da das Polymer angegriffen wird und Risse in der Beschichtung auftreten können.

5 Sollen die Deckgläser gelagert und dafür gegebenenfalls auch direkt aufeinander gestapelt werden, dann sind längere Trocknungszeiten bis 24 Stunden vorteilhaft. Als gut geeignet haben sich z.B. 2 Stunden bei 60°C im Trockenschrank erwiesen.

10 Zur Eindeckung wird das beschichtete Deckglas mit der beschichteten Seite auf einen durch Intermedium noch feuchten Objektträger mit bekannter Technik aufgelegt. Durch die Beschichtung mit dem Eindeckmedium verbinden sich Deckglas und Objektträger innerhalb weniger Sekunden und härten aus. Typischerweise ist das Präparat bereits nach 3 Minuten, meistens sogar nach weniger als einer Minute, vollständig
15 ausgehärtet und kann dann, z.B. unter Verwendung von Immersionsobjektiven, mikroskopiert werden.

20 Durch die einfache Handhabung eignet sich das erfindungsgemäße beschichtete Deckglas sowohl zur manuellen wie auch zur automatischen Eindeckung von Präparaten. Da zum Eindecken kein flüssiges Eindeckmedium verwendet werden muß, besteht keine Gefahr des Verklebens. Bevorzugterweise werden die auf den Objektträgern fixierten Präparate direkt nach dem Färben und optional nach dem Entwässern aus der letzten Lösung (Intermedium), d.h. z.B. Wasser oder Xylol bzw. Xylolersatzstoffen,
25 entnommen und in noch feuchtem Zustand eingedeckt. Sind die Präparate bereits nahezu trocken, sollten sie nochmals mit wenig Intermedium angefeuchtet werden.

30 Ein weiterer Parameter, der zu beachten ist, ist die Art und Dicke der Präparate. Das erfindungsgemäße Deckglas eignet sich zum Eindecken von Präparaten beispielsweise aus Histologie und Zytologie, wie sie typischerweise auch nach dem Stand der Technik eingedeckt werden.

- 13 -

Somit eignen sich die erfindungsgemäßen Deckgläser insbesondere zum Eindecken von Präparaten mit einer Dicke bis zu 15 µm. Je nach Dicke der Beschichtung des Deckglases und der Art des Eindeckmediums können auch dickere Präparate eingedeckt werden.

5

Neben der manuellen Eindeckung können die beschichteten Deckgläser und das erfindungsgemäße Verfahren auch für die automatische Eindeckung mit Eindeckautomaten verwendet werden. Eindeckautomaten, die nach dem Stand der Technik die Objektträger mit einer definierten
10 Menge Eindeckmedium benetzen und anschließend das Deckglas aufsetzen, sind kommerziell erhältlich. Für das erfindungsgemäße Eindeckverfahren können sowohl Eindeckautomaten nach dem Stand der Technik verwendet werden, deren Funktion leicht modifiziert wird, wie auch Eindeckautomaten, die für das erfindungsgemäße Verfahren konzipiert
15 sind. Herkömmliche Eindeckautomaten besitzen eine Dosierpumpe, um flüssiges Eindeckmedium auf die Objektträger aufzubringen. Dies ist bei dem erfindungsgemäßen Verfahren nicht notwendig. Demnach kann dieser Schritt beim Einsatz von Eindeckautomaten für das erfindungsgemäße Verfahren ausgelassen werden. Eine weitere Möglichkeit besteht darin,
20 über diese Dosiervorrichtung statt des Eindeckmediums etwas Intermedium (Wasser, Xylol, etc.) auf die Objektträger zu geben. Da die Objektträger mit den Präparaten für das erfindungsgemäße Verfahren noch feucht sein sollten, könnten Präparate, die nach dem Färben oder Entwässern bereits wieder leicht getrocknet sind, durch eine kleine Menge Intermedium erneut
25 angefeuchtet werden. Anschließend wird das Präparat mit dem erfindungsgemäßen Deckglas eingedeckt.

30

In einer anderen Ausführungsform eines Eindeckautomaten, die besonders für das erfindungsgemäße Verfahren geeignet ist, werden die Objektträger mit den Präparaten in einem mit Lösungsmittel (Intermedium) gefüllten Behälter gelagert. Bei der Eindeckung werden die Objektträger aus dem Lösungsmittel behälter heraus genommen und direkt mit dem

- 14 -

beschichteten Deckglas bedeckt. Die Aufgabe von Eindeckmedium oder weiterer Mengen an Lösungsmittel ist hier nicht notwendig.

5 Durch die Verwendung des erfindungsgemäßen Deckglases werden die Eindeckautomaten wesentlich schonender behandelt als mit herkömmlichen Verfahren, da kein klebriges Eindeckmedium in den Automaten gelangen kann. Genau wie bei der manuellen Eindeckung können die Präparate schon nach kurzer Zeit mikroskopiert werden.

10 Somit bietet die erfindungsgemäßen Deckgläser und das erfindungsgemäße Verfahren zum Herstellen dieser Deckgläser nun die Möglichkeit, Präparate schnell und einfach einzudecken. Die manuelle Handhabung klebriger Eindeckmittel entfällt. Durch die erfindungsgemäße Schichtdicke und Schichtdickentoleranz des Eindeckmediums wird eine
15 dauerhafte Eindeckung erzeugt. Die eingedeckten Präparate können über einen langen Zeitraum gelagert werden, ohne dass sich das Deckglas ablöst.

20 Auch ohne weitere Ausführungen wird davon ausgegangen, daß ein Fachmann die obige Beschreibung im weitesten Umfang nutzen kann. Die bevorzugten Ausführungsformen und Beispiele sind deswegen lediglich als beschreibende, keineswegs als in irgendeiner Weise limitierende Offenbarung aufzufassen.

25 Die vollständige Offenbarung aller vor- und nachstehend aufgeführten Anmeldungen, Patente und Veröffentlichungen, ist durch Bezugnahme in diese Anmeldung eingeführt.

30

- 15 -

Beispiele

1. Beschichtung mittels Siebdruck

- 5 Ein Sieb mit einer offenen Maschenweite von $688 \mu\text{m}$ und einem Fadendurchmesser von $140 \mu\text{m}$ wird auf einen Rahmen von $700 \times 500 \text{ mm}$ gespannt und auf einem Flachbettsiebdruckautomat montiert. Auf einer Unterlage werden auf einem Träger 6×7 Reihen Deckgläser $25 \times 50 \text{ mm}$ mittels Vakuum positioniert.
- 10 Das Eindeckmedium mit einer Viskosität von 2900 mPas wird auf das Sieb aufgegeben, das Sieb über die Deckgläser abgesenkt und dann mit Hilfe eines Rakels das Eindeckmedium durch das Sieb auf die Deckgläser gedrückt. Sofort danach wird das Sieb wieder angehoben. Anschließend werden die Deckgläser zum Trocknen entnommen.

15

2. Beschichtung mittels Dosiernadel

- 20 Die Deckgläser ($25 \times 50 \text{ mm}$) werden mit Hilfe einer Vorrichtung auf einem Vakuumtisch positioniert. Der Durchmesser der Dosiernadel beträgt von $0,8 \text{ mm}$. Als Eindeckmedium wird Entellan® mit einer Viskosität von 2900 mPas verwendet. Eine Spritze mit Dosiernadel wird gefüllt und mit einem Kolben verschlossen.
- 25 Der Abstand zwischen Dosiernadel und Deckglas sollte der aufzutragenden Schichtdicke entsprechen (hier: $0,2 \text{ mm}$). Die Dosiernadel wird mit einem Dosierroboter über einem Deckglas positioniert. Der Spritzenkolben wird dann mit ca. 2 bar beaufschlagt und die Nadel mit einer Geschwindigkeit von $60\text{-}100 \text{ mm/min}$ verfahren. Es werden einzelne "Eindeckmedium-Raupen" als Z-Form aufgetragen.
- 30 Mit dieser Fahrweise werden die Deckgläser einzeln beschichtet.

- 16 -

Ansprüche

1. Mittel zum Eindecken von Präparaten, das im wesentlichen aus einem Deckglas und einer darauf aufgetragenen Schicht eines Eindeckmediums besteht, dadurch gekennzeichnet, dass die Schichtdicke des Eindeckmediums zwischen 0,05 und 0,8 mm und die Schichtdickentoleranz nicht mehr als $\pm 0,1$ mm beträgt.
5
2. Mittel nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Schichtdickentoleranz nicht mehr als $\pm 0,05$ mm beträgt.
10
3. Mittel nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Schichtdicke des Eindeckmediums ca. 0,2 mm beträgt.
4. Mittel nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass das Deckglas aus Glas ist.
15
5. Mittel nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass der Feststoffanteil des Eindeckmediums in getrocknetem Zustand auf einer Fläche von 24 x 50 mm 150 – 300 mg beträgt.
20
6. Verfahren zur Herstellung von mit Eindeckmedium beschichteten Deckgläsern, dadurch gekennzeichnet, dass das Eindeckmedium maschinell mittels einer oder mehrerer Dosiernadeln, mittels Druckverfahren, Beschichtung durch einen Flüssigkeitsvorhang, Auftrag durch eine Schlitzdüse, Verteilen mit einem Rakel oder mittels Spin Coating mit einer Schichtdicke zwischen 0,05 und 0,8 mm und einer Schichtdickentoleranz von nicht mehr als $\pm 0,1$ mm auf das Deckglas aufgetragen wird.
25
30

- 17 -

7. Verfahren nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass der Auftrag des Eindeckmediums mittels einer oder mehrerer Dosiernadeln erfolgt.

5 8. Verfahren nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass der Auftrag des Eindeckmediums mittels Siebdruck erfolgt.

9. Verwendung eines Mittel zum Eindecken von Präparaten gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 5 zur manuellen oder automatischen Eindeckung von Präparaten.

10

15

20

25

30

- 18 -

Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft mit Eindeckmedium beschichtete Deckgläser zum Eindecken von Präparaten sowie maschinelle Verfahren zu deren
5 Herstellung. Durch die erfindungsgemäßen Deckgläser wird das Eindecken von Präparaten stark vereinfacht, da zum einen die Handhabung des klebrigen Eindeckmediums entfällt und zum anderen die Präparate schon nach wenigen Minuten fest eingedeckt sind und selbst unter Verwendung von Immersionsobjektiven mikroskopiert werden können. Durch die
10 erfindungsgemäßen Schichtdicken und Schichtdickentoleranzen des Eindeckmediums wird eine stabile und dauerhafte Eindeckung erzeugt.

15

20

25

30



EPO - Munich
51

15. Okt. 2004

Merck Patent GmbH · Frankfurter Straße 250 · 64293 Darmstadt

European Patent Office

80298 München

Datum 12.10.2004
Bereich/Abt. Patents & Scientific Inform.
Zuständig Dr. Mier-rg-P04/037
Tel. +49(0)6151/72-72 71
Fax +49(0)6151/72-71 91
E-Mail patent@merck.de

Ihr Brief vom
Ihr Zeichen 04005103.9

Application No. EP 04005103.9

Title: Mittel zum Eindecken von mikroskopischen Präparaten

Kindly provide us with 2 certified copy of this application as soon as possible.

Merck Patent GmbH
i.V.

i.V.


T. Rupp


Dr. Mier

Zur Kass

Enclosure:
Debit Order

Merck Patent GmbH

Postfach · 64271 Darmstadt
Frankfurter Straße 250 · 64293 Darmstadt
Telefon 06151/72-0
Telefax 06151/72-7191
e-mail: patent@merck.de

Bankkonto:
103648 Deutsche Bank AG,
Filiale Darmstadt (BLZ 508 700 05)

Geschäftsführer:
Dr. Tilman Schmidt-Lorenz
Sitz der Gesellschaft: Darmstadt
Registergericht:
Amtsgericht Darmstadt HRB 1547

FCW/EP2005/000982

